Jemmoppi

LABORATORII DELLA SANITÀ PUBBLICA
(Ministero dell' Interno)

In 18

L'AZIONE BATTERICIDA

DELLE

SOLUZIONI SATURE DI CLORURO SODICO

Dott. FRANCESCO TESTI Capitano medico

Estratto dalla **Riforma Medica** *N. 77, Anno XVII*

ROMA
Tipogr. della RIFORMA MEDICA
1901

LABORATORII DELLA SANITÀ PUBBLICA
(Ministero dell' Interno)

L'AZIONE BATTERICIDA

DELLE

SOLUZIONI SATURE DI CLORURO SODICO

Dott. FRANCESCO TESTI Capitano medico

Estratto dalla **Riforma Medica** *N. 77, Anno XVII*

ROMA
Tipogr. della RIFORMA MEDICA
1901

Che il cloruro di sodio debba ritenersi dotato non soltanto di azione conservatrice, ma anche di azione disinfettante, non è cosa nuova. Si sa infatti che presso gli ateniesi era usato come antisettico nella cura delle ferite, ed è noto anche che recentemente il Koch, il Baumgarten, il Mertens, il Behring studiarono sotto il punto di vista della loro azione battericida le soluzioni concentrate di cloruro sodico.

A dire il vero però, gli studi in proposito non appaiono molto numerosi, e, se si eccettui una memoria del De Freytag sull' azione delle soluzioni concentrate di cloruro sodico riguardo alla vita dei batteri, il cloruro di sodio non ha goduto molta importanza sotto questo punto di vista, tantochè nella classificazione del Miquel sul valore dei diversi disinfettanti, esso è compreso nell'ultimo gruppo.

Una recente ordinanza del Ministero degli Interni relativa alle pelli provenienti da regioni infette da peste bubbonica, colla quale si autorizza l' importazione delle pelli stesse quando sieno state sottoposte alla salamoia di cloruro sodico, e l'avere io stesso assistito in parte agli esperimenti eseguiti per conto dei Laboratorî della Sanità pubblica, i quali dimostrarono che la detta salamoia uccide dopo un certo tempo i germi della peste bubbonica, mi invogliarono a studiare con un certo sistema l'azione di queste soluzioni sature sulla vita dei batteri, cercando anche, qualora mi fosse stato possibile, di ricavare qualche pratica applicazione d' interesse igienico.

Preparai a questo scopo una certa quantità di soluzione satura di cloruro sodico, il saggio quantitativo del quale, per mezzo della soluzione decinormale di nitrato d'argento, mi diede il 34,42 per 0[0 di sale. Preparai inoltre tanti matracci Erlenmeyer contenenti ciascuno 70 cc. di brodo senza sale; ciò perchè, aggiungendo ad ognuna di esse 1 cc. della soluzione salina, potessi avere un brodo normale nutritivo col 0,5 0[0 di cloruro sodico. Riempii infine diversi tubi da saggio con 1 cc. ciascuno di soluzione satura di cloruro sodico, i quali infettai con un'ansa di cultura fresca di tifo in agar, ed alcuni di questi tenni alla temperatura dell'ambiente (16°-18°), altri posi in termostato a 36°. Mi proposi poi di esaminare successivamente, dopo 1, 2, 3 ecc. giorni, l'azione disinfettante della soluzione salina, trasportando con tutte le cautele di asepsi il contenuto dei tubi entro i matracci Erlenmeyer con brodo senza sale.

I risultati delle esperienze dal 1° all' 8° giorno di permanenza dei tubi alla temperatura dell'ambiente e a quella del termostato, e che esprimerò con un segno + per indicare lo sviluppo culturale e quindi la permanenza in vita dei germi, e con un 0 per indicare invece la morte dei germi stessi, fu il seguente:

Temp.	1° g.	2° g.	3° g.	4° g.	5° g.	6° g.	7° g.	8° g.
16°-18°	+	+	+	+	+	+	+	+
36°	+	0	0	0	0	0	0	0

Questa tavola corrisponde esattamente nei suoi risultati a quanto ho potuto osservare in altri esperimenti, che tralascio di riferire per brevità, sia usando invece del brodo una soluzione semplice di peptone quale mezzo nutritivo per la dimostrazione della vitalità o meno dei germi, sia usando, invece dei 70 cc. di brodo e del centimetro cubico di soluzione salina infettata, 7 cc. di brodo in tubo di saggio, ai quali aggiungevo parte aliquota di soluzione salina inquinata (2 gocce abbondanti). Il risultato di tutte queste esperienze, variando anche la temperatura, fu che i germi del tifo provenienti da cultura fresca in agar (di due giorni), introdotti in discreta quantità

in una soluzione satura di cloruro sodico e tenuti alla temperatura costante di 36°, perdono dopo 2 giorni la facoltà vegetativa, mentre a temperatura più bassa (fino a 26°) conservano tale facoltà fino all'8° giorno. Aggiungerò poi che, in vista di questi risultati, volli provare se, associando all' azione del cloruro di sodio quella di una temperatura più alta della precedente, si potesse ottenere un'accelerazione negli effetti battericidi, tanto più che anche in lavori speciali sull'argomento, come in quello di Heider, non trovai citata alcuna esperienza col cloruro sodico. Sottoposi quindi i germi del tifo in soluzione salina, a temperature sempre maggiori (fino a 50°) anche con permanenza di un'ora, ma non riscontrai alcuna modificazione nella vitalità dei germi, e mi convenne tralasciare, per la ragione che stavo per avvicinarmi a temperature (60° come vuole lo Pfuhl) alle quali il germe del tifo avrebbe dovuto soccombere, evidentemente pel semplice effetto della temperatura istessa.

Analoghi esperimenti feci col bacillo della morva e con quello del carbonchio, ambidue allo stato della più alta virulenza in seguito a passaggi attraverso gli animali. In quanto al bacillo della morva, esso resistette fino al 4° giorno, ma dopo non diede più alcuno sviluppo culturale; ciò però alla temperatura costante di 36°, giacchè anch' esso, alla temperatura dell'ambiente, si mostrò tuttora vivo all' 8° giorno. Il carbonchio invece (sporulato o in via di sporulazione) all' 8° giorno diede sviluppo culturale abbondante tanto tenuto alla temperatura dell'ambiente, quanto a quella di 36°.

Sebbene le ultime esperienze mi avessero già dato un'idea della grande resistenza del bacillo carbonchioso al cloruro sodico, pur nondimeno volli tentare qualche ricerca sulla salamoiatura delle pelli carbonchiose. Inoculai quindi sotto cute a 4 cavie il bacillo del carbonchio, e, appena morte, dopo aver ben insaponato e lavato accuratamente con acqua sterilizzata il dorso, i fianchi ed il ventre, levai tutto in giro la pelle di quelle regioni. Misi poi le quattro pelli in singoli cristallizzatori, immergendole completamente in una soluzione salina satura e tenendole a fondo per mezzo di pesi di piombo sterilizzati. Ne lasciai due alla temperatura dell' ambiente e due a

36°, e, a cominciare dal 4° giorno, presi successivamente e per ogni campione, dei pezzetti della superficie interna delle pelli, specialmente ove notavasi l'edema gelatinoso, e li inoculai, dopo averli ben bene lavati in acqua sterilizzata, a delle cavie sotto cute. Fino al 16° giorno di permanenza nel sale, tanto nelle pelli alla temperatura dell'ambiente, quanto in quelle a 36° ebbi sempre la morte degli animali, per infezione carbonchiosa. Al 16° giorno le due inoculazioni non furono susseguite dalla morte degli animali, ma nei giorni successivi, fino al 20°, si ebbe di nuovo la morte. Anche le culture in agar fatte col liquido salino dove erano immerse le pelli, diedero sempre risultato culturale positivo. Restava dunque dimostrato che l' azione della soluzione satura di cloruro di sodio verso le pelli carbonchiose fino al 20° giorno è nulla. Il risultato negativo corrispondente al 16° giorno fu causato evidentemente da speciali circostanze di esperimento.

Riuscito vano questo tentativo di sterilizzazione delle pelli carbonchiose colla soluzione salina, intrapresi nuove ricerche onde saggiare la resistenza di altri germi all' azione del cloruro sodico. Preparati nel modo istesso detto più sopra dei tubi con soluzione satura di cloruro sodico (titolo 35 0[0), li infettai separatamente con un'ansa, per ciascuno, di cultura di coli-bacillo, di vibrione colerico, di bacillo di Finkler, di bacillo difterico, di piogeno aureo, di bacillo sottile, e ne misi una serie a 36°, un' altra alla temperatura dell' ambiente. Preparai inoltre i soliti tubi con 7 cc. di brodo senza sale, nei quali poi introdussi le 2 gocce abbondanti di soluzione salina infettata.

I risultati delle esperienze in proposito, protratte fino al 12° giorno di permanenza dei germi nel sale, furono: che il coli-bacillo muore fra il 4° e 5° giorno alla temperatura di 36°, resiste invece a quella di 12°; che il colera muore già dopo il 1° giorno, tanto alla temperatura di 36° che a quella di 12°; che ugualmente si comporta il bacillo di Finkler; che il bacillo della difterite muore fra il 2° e 3° giorno a 36°, dopo il 5° a 15°; che il piogeno aureo muore dopo il 4° a 36° e all' 11° giorno a 12°; che il bacillo sottile resiste per tutti i 12 giorni tanto a 36° che a 12°; infine che ugualmente comportasi il bacillo del carbonchio. E a proposito di quest' ultimo, debbo notare che il

fatto non poteva essere che prevedibile, data l' immensa resistenza di questo microrganismo, e specialmente delle sue spore, a tutti gli agenti fisici e chimici, e tenendo calcolo delle esperienze già praticate in proposito dal già citato De Freytag, il quale usando soluzioni saline concentrate di cloruro sodico a diverso titolo (fra il 7 e il 10 0[0) trovò che le spore del carbonchio sono ancora viventi dopo 6 mesi. Debbo però al riguardo far notare alcune divergenze, che risultarono fra le mie e le esperienze del De Freytag, divergenze che servono a dimostrare una volta di più la somma difficoltà che trovasi nel dar giudizi assoluti su questo o quel disinfettante, e la necessità quindi di operare sempre nelle stesse identiche condizioni per aver risultati concordi, o per lo meno di citare, ogni qualvolta si fanno esperienze di tal genere, tutti i più fini dettagli riguardanti la tecnica sperimentale. Il De Freytag infatti colle sue soluzioni sature alla temperatura dell' ambiente (la quale però non è detto qual sia) trova che gli stafilococchi piogeni e il bacillo della difterite muoiono il primo dopo 5 mesi, il secondo dopo 3 settimane, mentre io ne avrei dimostrato la morte dopo pochi giorni; inoltre egli ha riscontrato la morte delle forme vegetative del carbonchio in due ore, mentre le mie esperienze, che riferirò più sotto, mi diedero un differente risultato. Come ripeto, ciò non può dipendere che da incostanze parziali d'esperimento.

Vengo ora ad esporre i risultati delle mie ricerche circa all'azione del cloruro sodico sulla forma vegetativa del carbonchio. A tale scopo mi servii del sangue aspirato dal cuore di cavie inoculate di carbonchio virulentissimo, che uccidevo nel periodo agonico, e con esso, dopo essermi assicurato del ricchissimo suo contenuto in bacilli carbonchiosi, infettai parecchi tubi contenenti soluzione salina satura, che misi alle temperature di 12°, 18°, 36°. Nei giorni successivi poi, come feci per gli altri germi, trasportai le due gocce abbondanti di liquido salino infettato nei tubi con brodo senza sale, ed ebbi i seguenti risultati:

Temp.	Giorni di permanenza in Na Cl					
	1	2	3	4	5	6
12	+	+	0	0	0	0
18°	+	+	0	0	0	0
36°	0	0	0	0	0	0

Come si vede dunque, alla temperatura di 12° e 18° si ebbe sviluppo nei primi due giorni, poi più nulla nei successivi, mentre a 36° non si ebbe mai sviluppo alcuno.

Infine volli anche vedere se questo trattamento col sale avesse potuto in qualche maniera modificare la virulenza del bacillo carbonchioso. Usando perciò le culture sviluppate in brodo di germi già precedentemente assoggettati al trattamento col sale, ed aggiungendo anche quantità varie di cloruro sodico ai brodi nutritivi, che infettavo poi con bacilli carbonchiosi, non ebbi mai attenuazione alcuna nella virulenza delle culture stesse come potei accertare con inoculazioni in cavie e relativi confronti colla cultura di controllo.

Le conclusioni che possono trarsi da queste esperienze, ben inteso sempre tenendo calcolo delle speciali modalità tecniche usate per le medesime, e delle qualità di vegetabilità e di virulenza dei germi impiegati, possono ridursi alle seguenti:

1° Il cloruro di sodio in soluzione satura possiede un certo grado di azione battericida sui varii germi patogeni.

2° L'azione battericida del cloruro sodico in soluzione satura è molto agevolata dal concorso di una temperatura piuttosto elevata e costante.

3° Il grado di resistenza all' azione battericida del cloruro sodico è vario pei diversi germi presi in esame. Essi possono classificarsi in questo modo, per ordine decrescente di resistenza: bacillo del colera, bacillo di Finkler, bacillo del tifo, bacillo della difterite, bacillo della morva, piogeno aureo. Questi dati però si riferiscono alla temperatura di 36°. A quelle inferiori i

dati sono molto più incerti, e la resistenza dei germi è in genere molto maggiore.

4° La forma vegetativa del carbonchio ematico offre una resistenza debolissima all'azione del cloruro sodico: anche dopo il primo giorno di azione del medesimo, alla temperatura di 36° gradi, perde la sua vitalità. Altrettanto non può dirsi del bacillo sottile, il quale resiste, anche a 36°, e si sviluppa costantemente.

5° Le pelli carbonchiose, anche dopo 20 giorni di azione della salamoia di cloruro sodico, non perdono la virulenza, almeno negli strati più profondi dei tessuti infetti.

6° L'azione del cloruro sodico non modifica per nulla la virulenza dei germi carbonchiosi.

BIBLIOGRAFIA.

Behring. Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden. Gesammelte Abhandlungen zur ätiologischen Therapie von Anstreckenden Krankheiten. Leipzig 1893, pag. 253. — Koch. Ueber Desinfection. Mittheil. aus dem Keiserl. Gensundheitsammte 1881, vol. 1. pag. 266. — Sternberg. Desinfection and Desinfectant. Preliminary report made by the comittee of disinfectant. 1887. — H. Jäger. Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener chemischer Desinfectionsmittel bei kurz dauernder Einwirkung auf Infectionstoffe. Arbeiten aus dem Keiserl. Gesundheit, 1889. — Heider. Ueber die Wirksamkeit von Desinfectionsmittel bei höherer Temperatur. *Centralblatt f. Bact. und Parasit.* Vol. 9. 1891.—Heider. Ueber die Wirksamkeit der Desinfectionsmittel bei erhöher Temperatur. *Archiv für Hygiene*, 1892. Vol. 15.—Geppert. Ueber Desinficirdemittel und Methoden. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1890. — Miquel. Les organismes vivents de l'atmosphère, 1882. — Pfühl. Zum Sporenbildung der Tiphusbacillen. *Centralblatt f. Backter*, 1888,II. — Macè. Traité de bactériologie., 1899. — Ottolenghi. I batteri patogeni in rapporto ai disinfettanti, 1899. — Sclavo. La disinfezione delle pelli carbonchiose. *Riv. d'Igiene e di Sanità pubblica*, 1° giugno 1897. — Perroncito. Sur la ténacité de vie du virus charbonneux. *Archiv. ital. de biologie*, 1883. — C. I. De Freytag. Ueber die Einwirkung concentrirter Kochsalzlösungen auf des Leben von Bacterien, 1890. Vol. 11.